

AUS DEM LEHRSTUHL
FÜR HUMANGENETIK
PROF. DR. RER. NAT. BERNHARD WEBER
DER FAKULTÄT FÜR MEDIZIN
DER UNIVERSITÄT REGENSBURG

***LIS1*-assoziierte klassische Lissenzephalie: Eine retrospektive, multizentrische Studie
zum epileptischen Phänotyp und Ansprechen auf Antikonvulsiva**

Inaugural – Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin

der
Fakultät für Medizin
der Universität Regensburg

vorgelegt von
Christiane Regina Pröpper

2017

AUS DEM LEHRSTUHL
FÜR HUMANGENETIK
PROF. DR. RER. NAT. BERNHARD WEBER
DER FAKULTÄT FÜR MEDIZIN
DER UNIVERSITÄT REGENSBURG

***LIS1*-assoziierte klassische Lissenzephalie: Eine retrospektive, multizentrische Studie
zum epileptischen Phänotyp und Ansprechen auf Antikonvulsiva**

Inaugural – Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin

der
Fakultät für Medizin
der Universität Regensburg

vorgelegt von
Christiane Regina Pröpper

2017

Dekan:	Prof. Dr. Dr. Torsten E. Reichert
1. Berichterstatter:	Prof. Dr. Ute Hehr
2. Berichterstatter:	Prof. Dr. Gerhard Schuierer
Tag der mündlichen Prüfung:	12.04.2018

Inhaltsverzeichnis

<u>Publikation</u>	4
<u>Deutsche Zusammenfassung</u>	12
1. Einleitung	12
2. Patienten und Methoden	14
2.1. Patientenkollektiv	14
2.2. Klinische Evaluation	14
2.3. Genetische Untersuchung	15
2.4. Statistische Auswertung	15
3. Ergebnisse	16
3.1. Patientenkollektiv	16
3.2. Klinische und neuroradiologische Diagnostik	16
3.3. Genotyp-Phänotyp-Korrelation und klinische Präsentation	19
3.4. Epilepsie und Elektroenzephalografie (EEG)	20
3.5. Evaluation der antikonvulsiven Therapie	21
4. Diskussion	25
5. Zusammenfassung	29
6. Abkürzungsverzeichnis	30
7. Literaturverzeichnis	32
8. Danksagung	35

Publikation:

Brain & Development 38 (2016) 399–406



www.elsevier.com/locate/braindev

Original article

LIS1-associated classic lissencephaly: A retrospective, multicenter survey of the epileptogenic phenotype and response to antiepileptic drugs

Saskia M. Herbst ^{a,*}, Christiane R. Proepper ^{a,1}, Tobias Geis ^b, Ingo Borggraefe ^c,
 Andreas Hahn ^d, Otfried Debus ^e, Martin Haeussler ^f, Gero von Gersdorff ^g,
 Gerhard Kurlemann ^h, Matthias Ensslen ^c, Nathalie Beaud ⁱ, Joerg Budde ^j,
 Michael Gilbert ^k, Ralf Heimig ^l, Rita Morgner ^m, Heike Philippi ⁿ, Sophia Ross ^o,
 Gertrud Strobl-Wildemann ^p, Kerstin Muelleder ^q, Paul Vosschulte ^r,
 Deborah J. Morris-Rosendahl ^s, Gerhard Schuierer ^t, Ute Hehr ^a

^a Center for and Institute of Human Genetics, University of Regensburg, Regensburg, Germany

^b Department of Pediatric Neurology, Klinik St. Hedwig, University Children's Hospital Regensburg (KUNO), Regensburg, Germany

^c Department of Pediatric Neurology, Developmental Medicine and Social Pediatrics, Children's Hospital, University of Munich, Munich, Germany

^d Department of Child Neurology, Gießen, Germany

^e Clemenshospital, Children's Hospital, Münster, Germany

^f Frühdiagnosezentrum Würzburg, University Children's Hospital, Würzburg, Germany

^g University Hospital Cologne, Köln, Germany

^h University Children's Hospital Muenster, Department of General Pediatrics, Neuropediatrics, Münster, Germany

ⁱ Department of Neuropediatrics, Westküstenklinikum Heide, Heide, Germany

^j Department of Pediatrics St. Hedwig, St. Josefskrankenhaus Freiburg, Freiburg, Germany

^k Pediatric Practice, Werne, Germany

^l Pediatric Practice, Barsinghausen, Germany

^m Pediatric Practice, Kirchberg, Germany

ⁿ Center of Developmental Neurology Frankfurt, Frankfurt, Germany

^o Pediatric Neurology, University Children's Hospital Erlangen, Erlangen, Germany

^p MVZ Human Genetics, Ulm, Germany

^q Landes- Frauen- und Kinderklinik Linz, Linz, Austria

^r Pediatric Practice, Münster, Germany

^s Genomic Medicine, National Heart and Lung Institute, Imperial College London, Royal Brompton Hospital, London, United Kingdom

^t Center for Neuroradiology, Bezirksklinikum Regensburg, University Medical Center, Regensburg, Germany

Received 6 August 2015; received in revised form 30 September 2015; accepted 1 October 2015

Abstract

Background: Patients with *LIS1*-associated classic lissencephaly typically present with severe psychomotor retardation and drug-resistant epilepsy within the first year.

Aim: To analyze the epileptogenic phenotype and response to antiepileptic therapy in *LIS1*-associated classic lissencephaly.

* Corresponding author at: Center for and Institute of Human Genetics, University of Regensburg, Franz-Josef-Strauss-Allee 11, 93053 Regensburg, Germany. Tel.: +49 941 944 5408; fax: +49 941 944 5402.

E-mail address: saskia.herbst@ukr.de (S.M. Herbst).

¹ These authors contributed equally to the article.

Method: Retrospective evaluation of 22 patients (8 months–24 years) with genetically and radiologically confirmed *LIS1*-associated classic lissencephaly in 16 study centers.

Results: All patients in our cohort developed drug-resistant epilepsy. In 82% onset of seizures was noted within the first six months of life, most frequently with infantile spasms. Later in infancy the epileptogenic phenotype became more variable and included different forms of focal seizures as well generalized as tonic–clonic seizures, with generalized tonic–clonic seizures being the predominant type. Lamotrigine and valproate were rated most successful with good or partial response rates in 88–100% of the patients. Both were evaluated significantly better than levetiracetam ($p < 0.05$) and sulthiame ($p < 0.01$) in the neuropsychiatric assessment and better than levetiracetam, sulthiame ($p < 0.05$) and topiramate ($p < 0.01$) in the family survey. Phenobarbital and vigabatrin achieved good or partial response in 62–83% of the patients.

Conclusion: Our findings suggest that patients with *LIS1*-associated lissencephaly might benefit most from lamotrigine, valproate, vigabatrin or phenobarbital.

© 2015 The Japanese Society of Child Neurology. Published by Elsevier B.V. All rights reserved.

Keywords: Lissencephaly; *LIS1*; Epilepsy; Treatment; Brain malformation; Genotype-phenotype relationship

1. Introduction

Classic lissencephaly is a rare brain malformation caused by defective neuronal migration during embryonic development. Birth prevalence is estimated to be approximately 1–4:100,000 newborns [1]. Affected children typically present with severe psychomotor retardation and drug-resistant epilepsy. The seizure disorder commonly manifests in the first months of life with infantile spasms and later includes various seizure types, sometimes progressing to Lennox–Gastaut syndrome [2–4]. Treatment of frequently daily seizures is a major concern for the families and their attending child neurologist. Feeding problems, respiratory infections and status epilepticus are thought to contribute to the high mortality rate of approximately 50% up to the age of 10 years [2,3].

The etiology of classic lissencephaly is heterogeneous and includes Miller–Dieker syndrome as well as isolated monogenic forms. Currently mutations in seven core genes are known to cause classic lissencephaly. In approximately 70% of patients mutations in the *LIS1* (PAFAH1B1) gene are detected [5]. While heterozygous deletions or intragenic mutations in *LIS1* lead to the isolated lissencephaly sequence (ILS), variable microdeletions of 17p.13.3 including the *LIS1* gene and additional critical genes (e.g. *YWHAE*) cause Miller–Dieker syndrome [6].

Lissencephaly is radiologically characterized by a smooth and thickened cerebral cortex with reduced or absence of gyration (pachygyria/agyria) instead of the characteristic gyri and sulci of the normal human and primate brain [7].

There is a remarkable genotype phenotype correlation with mutations in the different genes resulting in gene-specific distinct cerebral malformations as seen in magnetic resonance imaging (MRI) as well as gene-specific changes in the unique layering of the cerebral cortex [8,9].

We therefore postulated that the genetic alterations underlying classic lissencephaly not only determine the genotype-specific cortical architecture but may also contribute to the individual epileptogenic phenotype and response to antiepileptic therapy.

To our knowledge, the efficacy of antiepileptic treatment in classic lissencephaly so far was described only in the context of case reports [10–12], in cohorts of patients with intractable epilepsy in general [13] or in animal models for lissencephaly [14,15].

Given the difficulties of performing a prospective randomized study in infants with this rare brain malformation, it was the aim of this retrospective study to systematically describe the epileptogenic phenotype and the response to antiepileptic therapy in a homogeneous patient cohort with genetically and radiologically confirmed *LIS1*-associated lissencephaly.

2. Patients and methods

2.1. Patients

Patients were recruited from the genetically assessed lissencephaly cohort in our diagnostic laboratory ($n = 11$) and through the homepage of the patient support group LISS e.V. ($n = 11$). Inclusion criteria for the patients of the present study were: (1) classic lissencephaly (type I lissencephaly) diagnosed by cerebral magnetic resonance imaging (cMRI) and (2) confirmed pathogenic *LIS1* mutation by genetic testing. Available cMRIs of ten patients were re-evaluated by a neuroradiologist (G.S.) and were graded according to Dobyns' lissencephaly patterning scale [16].

The study was conducted in accordance with The Code of Ethics of the World Medical Association (Declaration of Helsinki) and was approved by the ethic committee of the University hospital Regensburg, Germany. A written informed consent was given by all parents as legal guardians.

2.2. Clinical evaluation

Standardized neuropsychiatric (n = 18) and family questionnaires (n = 22) with or without additional telephone interviews (n = 8) were conducted to evaluate the psychomotor development and the disease progression with a main focus on epilepsy and antiepileptic therapy. In addition, standardized neuropsychiatric assessments (n = 18) were performed in 16 German and Austrian study centers. In order to study the genotype-specific response to various antiepileptic drugs (AEDs) standardized neuropsychiatric (n = 18) and family surveys (n = 22) were analyzed. Since classic lissencephaly is considered to be invariably associated with intractable epilepsy, we chose to evaluate the efficacy of antiepileptic drugs in this special patient cohort on an ordinal ranking scale instead of determining the responder rate commonly defined as seizure reduction >50%. Families and attending neuroepidriatrics were therefore asked to independently evaluate the efficacy of current and previous prescribed antiepileptic drugs on an ordinal ranking scale (categories: “good response”, “partial response”, “no response” and “clinical aggravation”). AEDs prescribed to less than six patients were not taken into account ([Supplementary material, Table 2](#)).

2.3. Genetic testing

Prior to our study the genetic analysis of the patients' DNA samples had already been performed in a diagnostic setting either in our own laboratory (n = 11) or in other cooperating laboratories in Germany and Austria (n = 11). The underlying *LIS1* mutations were detected either by fluorescence in situ hybridization (FISH), multiplex ligation-dependent amplification (MLPA; MRC Holland Kit (P061-C1 vs.10)), qPCR (as described by Borozdin [17]) or Sanger sequencing of the *LIS1* gene (PAFAH1B1).

2.4. Statistical analysis

All data were analyzed using SPSS Software (IBM SPSS Statistics for Windows, Version 22.0, Armonk, NY (USA)). Data were tested to be normally distributed with the Kolmogorov–Smirnov test. Normally distributed variables were referred to in terms of mean and standard deviation, and non-normally distributed data by median and interquartile range (IQR). Analysis of the efficacy of the antiepileptic drugs was performed using the Kruskal–Wallis test combined with the Dunn–Bonferroni post hoc test (two-tailed testing). Our study was created as an exploratory study, hence we considered an unadjusted P value of $p < 0.05$ to be significant (without multiplicity adjustment) [18].

3. Results

3.1. Patient cohort

Our cohort consisted of 22 unrelated patients (14 males, 8 females) with *LIS1*-related classic lissencephaly recruited in 16 German and Austrian study centers. Age at the time of data collection ranged between 8 months and 24 years (mean: 9.4 ± 6.9 years). One patient died at the age of 9.1 years from infection with fever-triggered exacerbation of the seizure disorder.

3.2. Clinical diagnosis and neuroimaging

In our cohort classic lissencephaly was diagnosed at a median age of 4.3 months (IQR: 3.2). One patient was diagnosed prenatally and three patients (14%) within the first six weeks of life, while the majority of patients (82%) were diagnosed postnatally beyond the age of six weeks. First abnormalities in behavior, psychomotor development or onset of seizures were noticed at a mean age of 3.2 ± 2.8 months. For all 22 patients cerebral MR imaging was performed at a median age of 5.0 months (range: 20 days–14.7 years), confirming either generalized (n = 4), occipitally pronounced (n = 14) or classic lissencephaly (not further specified) (n = 4).

In all ten re-evaluated cMR images the lissencephaly was more severe occipitally and MR grading according to Dobyns' lissencephaly patterning scale [16] ranged between grade 2 and 4: grade 2 (n = 2), grade 3 (n = 6) and grade 4 (n = 2) ([Supplementary material, Fig. 1 and Table 1](#)). The most common additional brain anomaly identified was an abnormal corpus callosum (flattening of the body and mild hypoplasia of the splenium) in seven patients ([Supplementary material, Fig. 1](#)). Furthermore, hippocampal malrotation was diagnosed in two patients, dilated ventricles in two and an enlarged extracerebral space in one individual. Moreover, cavum Vergae was a common variant encountered in our cohort (50%). The cerebellum appeared normal in all ten patients. Interestingly, gyration of the orbitofrontal region appeared to be relatively unaffected in all re-evaluated cMRIs, indicating more severely compromised neuronal migration in the occipital regions compared to the frontobasal cortex ([Supplementary material, Fig. 1 A3–C3](#)). For the remaining 12 patients written neuroradiological cMRI reports were available (11 comprehensive reports and one short report) and described dilated ventricles in three, signal alteration of the white matter in three and hypoplasia of the corpus callosum in two patients. Moreover, an enlarged extracerebral space and cerebellar hypoplasia were noted in one patient each.

3.3. Genotype–phenotype relationship and clinical performance

In our cohort 45% (n = 10) of patients had exon or whole gene deletions of the *LIS1* gene, including two patients with Miller–Dieker syndrome due to a typical microdeletion in 17p13.3, detected by FISH (Supplementary material, Table 1). In addition, two patients were found to carry exonic partial duplications of the *LIS1* critical region (9%). In 18% of the patients a nonsense mutation was identified (n = 4); one of these patients showed a postzygotic mosaicism for a nonsense mutation with approximately 20% mutant alleles in the analyzed genomic DNA from peripheral blood. In 9% each of the overall cohort a missense mutation (n = 2), a splice site mutation (n = 2) and a frameshift mutation (n = 2) was identified (full mutation list in Supplementary material, Table 1).

Psychomotor development at the time of the study (median age: 9.4 years, range 8 months–24 years) revealed severe impairment in all patients with *LIS1*-associated lissencephaly. While early developmental steps such as head control were mastered by more than half of the patients, later milestones of the first year were rarely obtained (Fig. 1).

77.3% of the patients showed good head control, while 22.7% rarely or never achieved this ability. Similarly, the ability to roll over was always observed in eight patients (36.4%) and sometimes in three patients (13.6%). Only a small percentage of the *LIS1*-cohort was able to reach for objects (18.2%). Developmental steps of the second half of the first year, including sitting, crawling and standing without assistance were obtained by less than 15% of the patients. Only three patients were at least sometimes able to walk with assistance, while no patient could walk independently. Interestingly, these three patients had an underlying 5' missense mutation (p.Arg20Ser, patient LIS1-01), a small 18 kb duplication (including intron 1, exon 2 and intron 2, patient LIS1-09) and low grade mosaicism for a nonsense mutation (p.W74*, patient LIS1-22; mutation in 20% of peripheral blood cells). Furthermore, cMR imaging for two of them (LIS1-01 and LIS1-09) confirmed a milder cerebral phenotype according to Dobyns grade 4. In contrast, all other 19 patients in our cohort at a median age of 7.6 years (range: 8 months–24 years) did not reach milestones beyond the first half of the first year (Fig. 1).

3.4. Epilepsy and electroencephalography (EEG)

All patients in our cohort developed drug-resistant epilepsy. In 82% the onset of seizures was within the first six months of life (n = 18). Age at onset of epilepsy ranged from 2 months to 24 months, with a median age of 5.0 months (IQR: 2.1).

402

In the majority of patients the first reported seizure type was infantile spasms (n = 10/14; 71%), in two patients accompanied by myoclonic seizures. Three patients (21%) presented with generalized tonic–clonic and one with generalized tonic seizures at the time of manifestation.

At the time of data collection the majority of patients (n = 11/17; 65%) suffered from a variety of seizure forms with generalized tonic–clonic seizures (n = 12; 71%) being the most predominant type. In addition, focal seizures (n = 6; 35%), infantile spasms (n = 4; 24%), absence (n = 3; 18%), myoclonic (n = 3; 18%), tonic (n = 3; 18%), clonic (n = 1; 6%) and atonic seizures (n = 1; 6%) were reported.

Electroencephalography (EEG) showed abnormal interictal findings in all patients including hypsarrhythmia (n = 9/20; 45%), regional abnormalities or regional epilepsy-typical potentials (ETPs) (n = 11/20; 55%) as well as generalized abnormalities or generalized ETPs (n = 10/20; 50%).

Despite anticonvulsive polytherapy all patients still suffered from seizures. However, the median daily number of seizures could be reduced from 4.0 (IQR: 10.5) at onset of epilepsy to 1.5 (IQR: 4.9) at the time of data collection. At this time 65% of the patients had daily seizures (n = 13), 30% had more than one seizure per week (n = 6) and only one patient had at least one seizure per month. For two children a loss of earlier obtained skills during periods of increased epileptic activity was reported.

3.5. Evaluation of anticonvulsive therapy

Statistical analysis was performed for all antiepileptic drugs prescribed to P6 patients to reveal a rank order for both the neuropsychiatric (Fig. 2A) and the family evaluation (Fig. 2B).

In both evaluations lamotrigine (LTG) was rated the most successful anticonvulsive drug with (partial) response rates of 87.5–100%. Efficacy of LTG was evaluated to be significantly better than levetiracetam (LEV) and sulthiame (STM) ($p < 0.05$ and $p < 0.01$ respectively) in the neuropsychiatric assessment and significantly better than oxcarbazepine (OXC), LEV, STM ($p < 0.05$) and topiramate (TPM) ($p < 0.01$) in the family survey. The second ranked drug, valproate (VPA), was evaluated with (partial) response rates of 88.2–91.7%. Efficacy of VPA was rated significantly better than LEV and STM ($p < 0.05$) in both surveys and showed significant differences from TPM ($p < 0.01$) in the family evaluation.

At the time of data collection five severely affected patients were taking the combination therapy LTG and VPA. In four patients this combination reduced the median number of daily seizures by 91.2% from 17/d (IQR: 26.4) to 1.5/d (IQR: 7.0) (no frequency data was available from the fifth patient). In addition to VPA

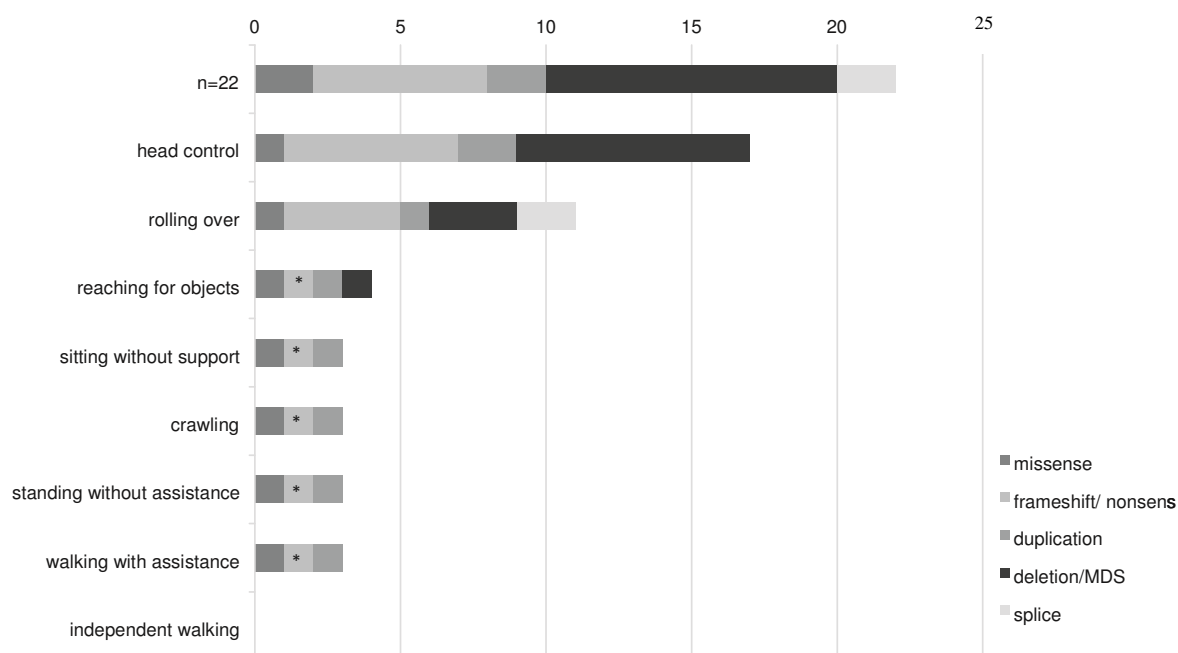


Fig. 1. Genotype–phenotype correlation in *LIS1*-associated lissencephaly. Only 3/22 patients were able to obtain psychomotor milestones of the second half of the first year of life, these included one patient with a 18 kb duplication (cMRI: grade 4a), one patient with missense mutation (cMRI: grade 4a) and one patient (*) with a mosaic nonsense mutation (20% mutant alleles in peripheral blood cells).

and LTG four of these five patients received additional anticonvulsive treatment: stiripentol + clobazam ($n = 1$), vigabatrin (VGB) ($n = 1$) and rufinamide ($n = 1$). Interestingly, a 17-year-old patient was treated with vagus nerve stimulation (VNS) in addition to his continuing and unchanged combination of VPA + LTG for two years. VNS was reported to result in decreased seizure frequency and improved EEG results without serious side effects in this patient.

Phenobarbital (PB) and VGB were ranked third or fourth in both the family and the neuropsychiatric assessments. PB revealed a good treatment response in 33.3–41.7% and a partial treatment response in 41.7%–44.4%. Similar efficacy was reported for VGB with partial or good response rates in 61.6–68.8% in both surveys. Both PB and VGB were rated significantly better than the worst ranked drug in both surveys (STM in the neuropsychiatric assessment ($p < 0.01$) and TPM in the family evaluation ($p < 0.05$)).

In contrast, no response or even clinical aggravation was noted by the attending neuropsychiatricians in 71.4% for OXC ($n = 7$) and 60.0% for LEV ($n = 10$). Moreover, STM had virtually no treatment response in any patient in this neuropsychiatric evaluation: no response was noted in 83.3% and even clinical aggravation in 16.7% ($n = 6$). Similar poor efficacy of these three drugs were reported in the family survey with no response or

clinical aggravation noted in 46.2% for LEV ($n = 13$), in 50.0% for OXC ($n = 8$) and 54.6% for STM ($n = 11$). Overall the rank order revealed a similar efficacy ranking for the anticonvulsant drugs in the family and in the neuropsychiatric survey. Only TPM therapy was rated with divergent results. Treatment response to TPM was rated worst in the family survey with no response in 52.9% and even clinical aggravation in 5.9%. Partial response was described in 29.4% and good response in 11.8% ($n = 17$). In the neuropsychiatric assessment, however, TPM ranked 5th with good response in 18.2%, partial response in 45.5% and no response in 36.4% ($n = 11$).

4. Discussion

Psychomotor development of patients with *LIS1*-related lissencephaly is affected early and most severely and milestones of the second half of the first year of life are rarely mastered. Sitting, crawling and walking with assistance were only reported in three patients with milder mutations. This may indicate that patients with 5' missense mutations and small 5' duplications before the coiled coil domain may have a better developmental potential compared to deletions and other mutations that predict a premature protein termination. Interestingly, a similar genotype–phenotype relationship

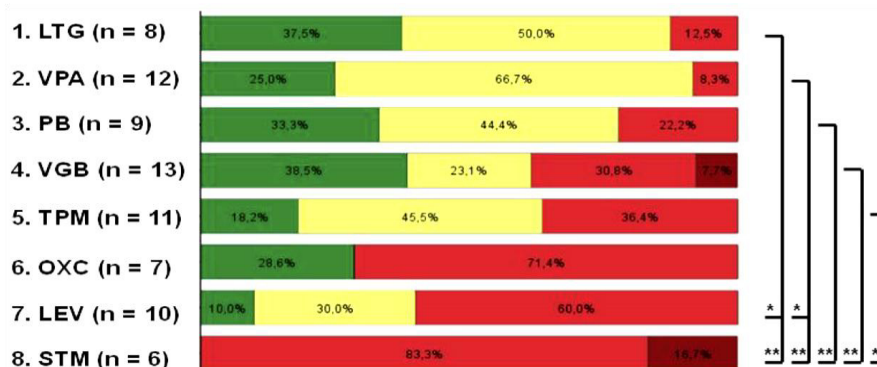
A Neuropediatric evaluation**B Family evaluation**

Fig. 2. (A) Efficacy of antiepileptic medication (neuropediatric evaluation). (B) Efficacy of antiepileptic medication (family evaluation). Therapeutic efficacy of antiepileptic drugs prescribed to P6 patients in descending order of the Kruskal–Wallis rank sum: good response = green, partial response = yellow, no response = red, clinical aggravation = dark red. Statistical differences are indicated with ‘*’ ($p < 0.05$) and ‘***’ ($p < 0.01$).

was previously reported for the lissencephaly grading in cMR imaging; as lissencephaly grade 4 was documented for two patients with 5' missense mutations (before the coiled coil domain [19]) and more severe cMRI phenotypes (grade 2–3) in patients with large deletions [20].

The main challenge in treating patients with *LIS1*-associated lissencephaly is their severe epilepsy, which is frequently resistant to medical polytherapy. In approximately 90% of our cohort onset of epilepsy was noted within the first year of life, which is similar to previous published data [2,3]. Likewise, drug-resistant epilepsy as defined by the ILAE [21] was present in all of our 22 patients. Effective antiepileptic treatment is therefore crucial in order to provide optimal conditions for the development of basic psychomotor and mental skills. However, data about the efficacy of antiepileptic medication in patients with *LIS1*-associated lissencephaly is sparse [10–12]. Leventer et al. described five patients with *LIS1*-related lissencephaly and epileptic seizures. Three of them were reported to be resistant to multiple antiepileptic therapies [11]. In this study we propose, that due to a genotype specific altered layering of the lissencephalic cortex a genotype-specific approach to antiepileptic

therapy may reduce the number of seizures and thus improve the overall quality of life for these patients.

Infantile spasms were the most frequent seizure form at the time of manifestation in our study population as well as in other previously published patient cohorts with classic lissencephaly [3,4]. According to our data, standard treatment protocols for infantile spasms such as VGB, ACTH and steroids may also be effective in the early disease course for patients with *LIS1*-associated lissencephaly. This is in line with Mokánszki et al., who reported good response to ACTH in a child with infantile spasms and lissencephaly due to a *LIS1* frameshift mutation [12]. Furthermore, good response to VGB in the treatment of infantile spasms was reported in children with tuberous sclerosis [22].

Later in infancy seizure symptomatology became more variable and included different forms of focal seizures as well generalized tonic–clonic seizures. In these infants early prescription of LTG and VPA appears promising. Both drugs were rated as the best two drugs by both families and attending neuropediatricians with (partial) response rates of more than 85%. LTG is considered to be an effective drug for generalized tonic–clonic seizures as well as a broad spectrum of partial seizures

[23]. In addition, it is one of a small number of FDA-approved therapies for seizures associated with severe Lennox–Gastaut syndrome [24].

Moreover, PB, which is more commonly prescribed in the neonatal period [25], may be quite useful even in older patients with *LIS1* mutation since it achieved response rates of more than 75%.

Collectively our data indicate that combining VPA + LTG may constitute a very promising regime for patients with *LIS1*-associated lissencephaly. This combination is reported to have synergistic effects [26]. In our cohort five severely affected patients were taking VPA + LTG at the time of the survey and this combination therapy was reduced the median number of daily seizures from 17 to 1.5 (91.2%). In addition to VPA + LTG, four patients received additional anticonvulsive treatment including one case of vagus nerve stimulation. Further studies are needed to explore whether complementary therapeutic concepts such as vagus nerve stimulation, which has been reported to be effective in patients with other drug-resistant lesional epilepsies [27], are also effective in patients with *LIS1*-related lissencephaly.

The neuropsychiatric and family evaluations revealed a similar rank order for most drugs analyzed. TPM, however, was rated quite differently among families and neuropsychiatrists. In the family survey TPM was ranked last with no response or clinical aggravation in 58.8%, whereas among neuropsychiatrists TPM was rated to be at least partially effective in 63.7%. These controversial results may be in part explained by the severe side effects that were reported. Families may have rated the anticonvulsive efficacy of TPM worse due to the common dose-dependent severe drowsiness and sedation [28]. One family noted specifically in the telephone interview that under TPM treatment their affected child slept for more than 20 h per day and was barely responsive at all. Further studies are needed to analyze whether TPM treatment may have more severe side effects such as severe sedation in the specific context of *LIS1*-associated lissencephaly.

Despite anticonvulsive polytherapy about two thirds of our *LIS1*-cohort still suffered from daily seizures. Interestingly, six patients with less than daily seizures at the time of data collection were taking at least one of the top four ranked medications (VPA, LTG, VGB, PB), including one patient with the combination of VPA + LTG.

We are well aware of the major limitations of this first retrospective study with 22 patients regarding possible spontaneous and age-related fluctuation of seizure frequency. Moreover, no systematic comparison of the dosages, the serum levels of active drug metabolites, or the overlapping time frame in which several drugs were taken simultaneously, was possible. However, due to the rarity of this orphan disease, achieving the gold standard of good clinical practice is very difficult.

In this initial study the evaluation of the AEDs is limited to the subjective estimation of the attending neuro-pediatricians and the affected families. Nevertheless, it provides exciting insights into the effects of various antiepileptic treatment schemes commonly applied to patients with *LIS1*-associated lissencephaly on both seizure frequency and their impact on the quality of life as important clinical endpoints for this patient cohort. It must now be complemented by prospective studies, which will include the assessment of the seizure reduction rate for larger patient cohorts with this rare genetic disorder in order to ultimately improve seizure control and overall quality of life for these patients.

5. Conclusion

LIS1-associated lissencephaly uniformly results in severe psychomotor impairment and early drug-resistant epilepsy commonly starting within the first year of life. Affected patients might benefit most from antiepileptic therapy with LTG, VPA, VGB or PB. The results of our study are limited to patients with *LIS1*-associated lissencephaly and need to be confirmed by larger prospective studies. Moreover, additional studies are needed to determine the epileptogenic phenotype for patients with even rarer forms of classic lissencephaly e.g. resulting from mutations in the *DCX* and *TUBA1A* gene.

6. Conflict of interest

All authors declare no conflict of interest.

Acknowledgments

We would like to give a special and warm thank you to all patients, their families and attending physicians taking part in our study and to the patient support group LISS e.V. for their tremendous help in recruiting families for our study.

Appendix A. Supplementary data

Supplementary data associated with this article can be found, in the online version, at <http://dx.doi.org/10.1016/j.braindev.2015.10.001>.

References

- [1] Dobyns WB, Das S. *LIS1*-associated lissencephaly subcortical band heterotopia. GeneReviews®. Seattle: University of Washington; 2009 [updated 2014].
- [2] Dobyns WB. The clinical patterns and molecular genetics of lissencephaly and subcortical band heterotopia. *Epilepsia* 2010; 51:5–9.

- [3] de Wit M-CY, de Rijk-van Andel J, Halley DJ, Poddighe PJ, Arts WFM, de Coe IFM. Long-term follow-up of type 1 lissencephaly: survival is related to neuroimaging abnormalities. *Dev Med Child Neurol* 2011;53:417–21.
- [4] Saillour Y, Carion N, Quelin C, Leger P-L, Boddaert N, Elie C, et al. *LIS1*-related isolated lissencephaly. *Arch Neurol* 2009;66:1007–15.
- [5] Hehr U, Schuierer G. Genetic assessment of cortical malformations. *Neuropediatrics* 2011;42:43–50.
- [6] Cardoso C, Leventer RJ, Ward HL, Toyo-oka K, Chung J, Gross A, et al. Refinement of a 400-kb critical region allows genotypic differentiation between isolated lissencephaly, Miller–Dieker syndrome, and other phenotypes secondary to deletions of 17p13.3. *Am J Hum Genet* 2003;72:918–30.
- [7] Dobyns WB, Reiner O, Carrozzo R, Ledbetter H. Lissencephaly – a human brain malformation associated with deletion of the *LIS1* gene located at chromosome 17p13. *JAMA* 1993;270:2838–42.
- [8] Forman MS, Squier W, Dobyns WB, Golden JA. Genotypically defined lissencephalies show distinct pathologies. *J Neuropathol Exp Neurol* 2005;64:847–57.
- [9] Kato M, Dobyns WB. Lissencephaly and the molecular basis of neuronal migration. *Hum Mol Genet* 2003;12:R89–96.
- [10] Inui T, Kobayashi T, Kobayashi S, Sato R, Endo W, Kikuchi A, et al. Efficacy of long term weekly ACTH therapy for intractable epilepsy. *Brain Dev* 2015;37:449–54.
- [11] Leventer RJ, Cardoso C, Ledbetter DH, Dobyns WB. *LIS1* missense mutations cause milder lissencephaly phenotypes including a child with normal IQ. *Neurology* 2001;57:416–22.
- [12] Mokánszki A, Kórhégyi I, Szabó N, Bereg E, Gergev G, Balogh E, et al. Lissencephaly and band heterotopia: *LIS1*, *TUBA1A*, and *DCX* mutations in Hungary. *J Child Neurol* 2012;27:1534–40.
- [13] Klinkenberg S, Aalbers MW, Vles JSH, Cornips EMJ, Rijkers K, Leenen L, et al. Vagus nerve stimulation in children with intractable epilepsy: a randomized controlled trial. *Dev Med Child Neurol* 2012;54:855–61.
- [14] Yamada M, Yoshida Y, Mori D, Takitoh T, Kengaku M, Umeshima H, et al. Inhibition of calpain increases *LIS1* expression and partially rescues in vivo phenotypes in a mouse model of lissencephaly. *Nat Med* 2009;15:1202–7.
- [15] Majkowski J. Drug Effects on afterdischarge and seizure threshold in lissencephalic ferrets: an epilepsy model for drug evaluation. *Epilepsia* 1983;24:678–85.
- [16] Dobyns WB, Truwit CL, Ross ME, Matsumoto N, Pilz DT, Ledbetter DH, et al. Differences in the gyral pattern distinguish chromosome 17-linked and X-linked lissencephaly. *Neurology* 1999;53:270–7.
- [17] Borozdin W, Boehm D, Leipoldt M, Wilhelm C, Reardon W, Clayton-Smith J, et al. *SALL4* deletions are a common cause of Okhiro and acro-renal-ocular syndromes and confirm haploinsufficiency as the pathogenic mechanism. *J Med Genet* 2004;41:e113.
- [18] Bender R, Lange S. Adjusting for multiple testing—when and how? *J Clin Epidemiol* 2001;54:343–9.
- [19] Uyanik G, Morris-Rosendahl DJ, Stiegler J, Klappecki J, Gross C, Berman Y, et al. Location and type of mutation in the *LIS1* gene do not predict phenotypic severity. *Neurology* 2007;69:442–7.
- [20] Cardoso C, Leventer RJ, Dowling JJ, Ward HL, Chung J, Petras KS, et al. Clinical and molecular basis of classical lissencephaly: mutations in the *LIS1* gene (PAFAH1B1). *Hum Mutat* 2002;19:4–15.
- [21] Kwan P, Arzimanoglou A, Berg AT, Brodie MJ, Allen Hauser W, Mathern G, et al. Definition of drug resistant epilepsy: consensus proposal by the ad hoc Task Force of the ILAE Commission on Therapeutic Strategies. *Epilepsia* 2010;51:1069–77.
- [22] Vigevaro F, Cilio MR. Vigabatrin versus ACTH as first-line treatment for infantile spasms: a randomized, prospective study. *Epilepsia* 1997;38:1270–4.
- [23] Beran RG, Berkovic SF, Dunagan FM, Vajda FJE, Danta G, Black AB, et al. Double-blind, placebo-controlled, crossover study of lamotrigine in treatment-resistant generalised epilepsy. *Epilepsia* 1998;39:1329–33.
- [24] Montouris GD, Wheless JW, Glauser TA. The efficacy and tolerability of pharmacologic treatment options for Lennox–Gastaut syndrome. *Epilepsia* 2014;55:10–20.
- [25] Hellström-Westas L, Boylan G, Agren J. Systematic review of neonatal seizure management strategies provides guidance on anti-epileptic treatment. *Acta Paediatr* 2015;104:123–9.
- [26] Brodie MJ, Yuen AWC. Lamotrigine substitution study: evidence for synergism with sodium valproate? *Epilepsy Res* 1997;26:423–32.
- [27] Hajnsek S, Petelin Z, Poljakovic Z, Mrak G, Paladino J, Desnica A. Vagus nerve stimulation in the treatment of patients with pharmacoresistant epilepsy: our experiences. *Coll Antropol* 2011;35:755–60.
- [28] Uldall P, Buchholt JM. Clinical experiences with topiramate in children with intractable epilepsy. *Eur J Paediatr Neurol* 1999;3:105–11.

Deutsche Zusammenfassung:

***LIS1*-assoziierte klassische Lissenzephalie: Eine retrospektive, multizentrische Studie zum epileptischen Phänotyp und Ansprechen auf Antikonvulsiva**

1. Einleitung

Die klassische Lissenzephalie zählt mit einer Prävalenz von etwa 1–4:100.000 Neugeborenen zu den seltenen Hirnfehlbildungen.¹ Ursächlich für die Erkrankung ist eine Migrationsstörung kortikaler Neurone während der Embryonalentwicklung. Die Entwicklung des menschlichen Cortex durch radiäre Wanderung neuronaler Vorläuferzellen von ihrem Entstehungsort im Bereich der Ventrikelwand in Richtung Hirnoberfläche ist bei Kindern mit klassischer Lissenzephalie gestört, sodass anstelle der gesunden, gefalteten Großhirnrinde ein abnorm geschichteter und verdickter Cortex mit glatter Oberfläche entsteht (lissós = griech. glatt, enképhalos = griech. Gehirn).^{2,3}

Betroffene Kinder weisen in der Regel eine erhebliche psychomotorische Retardierung auf und leiden an einer schweren, nicht selten therapieresistenten Epilepsie. Diese manifestiert sich für gewöhnlich in den ersten Lebensmonaten in Form von Blitz-Nick-Salaam (BNS)-Anfällen und umfasst mit zunehmendem Alter verschiedene Anfallsformen bis hin zu komplexen Epilepsieformen wie dem Lennox-Gastaut-Syndrom.^{4,5,6} Die Therapie der meist täglichen Anfälle stellt eine große Herausforderung für betroffene Familien und behandelnde Neuropädiater dar. Fütterungsprobleme, Atemwegsinfektionen und Status epilepticus werden als Hauptursachen für die hohe Todesrate von circa 50 % bis zu einem Alter von zehn Jahren angenommen.^{4,5}

Die Ätiologie der klassischen Lissenzephalie ist heterogen und umfasst syndromale Formen wie das Miller-Dieker-Syndrom und isolierte monogene Formen. Mutationen in mehreren Genen konnten bereits als ursächlich für die klassische Lissenzephalie identifiziert werden, wobei in ungefähr 70 % das *LIS1*-Gen (auch *PAFAH1B1* genannt) betroffen ist.⁷ Während heterozygote Deletionen und Mutationen im *LIS1*-Gen zur sogenannten isolierten Lissenzephalie Sequenz (ILS) führen, verursachen variable Mikrodeletionen des Genabschnitts 17p.13.3, welche das *LIS1*-Gen und andere kritische Gene (u. a. das *YWHAE*-Gen) einschließen, das Miller-Dieker-Syndrom.⁸

Radiologisch stellt sich die klassische Lissenzephalie in Form eines glatten und verdickten Cortex mit deutlich reduzierter (Pachygyrie) oder abwesender Gyrierung (Agyrie) anstelle der charakteristischen Windungen und Furchungen des gesunden menschlichen Gehirns dar.^{9,10}

Wissenschaftliche Arbeiten der vergangenen Jahre konnten eine ausgeprägte Genotyp-Phänotyp-Korrelation feststellen: Mutationen in einem bestimmten Gen resultieren sowohl in einem genspezifischen charakteristischen makroskopischen Bild, das sich mithilfe der Magnetresonanztomografie darstellen lässt, als auch in genspezifischen Veränderungen des mikroskopischen Kortexaufbaus.^{9,11,12}

Daher postulieren wir, dass die für die Lissenzephalie verantwortlichen genetischen Veränderungen nicht nur die Genotyp-spezifische kortikale Architektur bedingen, sondern auch den individuellen epileptischen Phänotyp sowie das Ansprechen auf die antikonvulsive Therapie beeinflussen.

Bislang wurde die Effektivität der antikonvulsiven Therapie bei Patienten mit klassischer Lissenzephalie nur im Rahmen von einzelnen Fallberichten,^{13,14,15} für Patientenkohorten mit komplexen, therapieresistenten Epilepsieformen im Allgemeinen^{16,17,18} sowie in Tiermodellen für Epilepsie^{19,20} untersucht. Aufgrund der Seltenheit dieser Hirnfehlbildung ist es jedoch schwierig, eine prospektive, randomisierte Studie mit betroffenen Kindern durchzuführen, sodass wir uns für ein retrospektives Studiendesign entschieden. Ziel der vorliegenden Arbeit war es, den epileptischen Phänotyp sowie das Therapieansprechen in unserer homogenen Kohorte von Patienten mit genetisch und radiologisch gesicherter klassischer *LIS1*-assoziierter Lissenzephalie erstmals systematisch zu charakterisieren.

2. Patienten und Methoden

2.1. Patientenkollektiv

Die Patientenrekrutierung erfolgte aus der Datenbank genetisch diagnostizierter Patienten unseres humangenetischen Zentrums ($n = 11$) sowie über die Homepage der Selbsthilfegruppe Liss e.V. ($n = 11$). Einschlusskriterium für die Patienten dieser Studie war die Diagnose einer klassischen Lissenzephalie (Typ 1-Lissenzephalie), gesichert durch 1) eine kraniale Magnetresonanztomografie (cranial magnet resonance tomography, cMRT) und 2) eine pathogene Mutation im *LIS1*-Gen in der genetischen Untersuchung. Verfügbare cMRT-Bilder von zehn Patienten wurden in Kooperation mit dem Zentrum für Neuroradiologie Regensburg reevaluiert und nach Dobyns' lissencephaly patterning scale eingestuft.²¹

Unsere Studie wurde in Übereinstimmung mit der Ethikerklärung des Weltärztebundes (Deklaration von Helsinki) durchgeführt, zudem lag ein positives Votum von der Ethikkommission des Universitätsklinikums Regensburg (Ethikantrag Nummer: 13-101-0090) vor. Schriftliche Einverständniserklärungen aller Eltern als Erziehungsberechtigte ihrer Kinder wurden eingeholt.

2.2. Klinische Evaluation

Die Datenerhebung zur Evaluation der psychomotorischen Entwicklung der Patienten sowie ihrem Krankheitsverlauf mit besonderem Fokus auf die Epilepsie und deren antikonvulsive Therapie erfolgte mittels standardisierter neuropädiatrischer ($n = 18$) und Familien-Fragebögen ($n = 22$). Ergänzend wurde bei Bedarf ein standardisiertes Telefoninterview durchgeführt ($n = 8$). Des Weiteren wurden standardisierte neuropädiatrische Untersuchungsbefunde ($n = 18$) der Patienten in 16 Studienzentren in Deutschland und Österreich erhoben.

Zur Evaluation des genspezifischen Ansprechens auf verschiedene antikonvulsive Therapeutika wurden die standardisierten neuropädiatrischen und Familien-Fragebögen ausgewertet. Die Familien sowie die behandelnden Neuropädiater wurden gebeten, die aktuell sowie in der Vergangenheit angewandten antikonvulsiven Medikamente für das betroffene Kind auf einer Skala mit den Kategorien „gutes Ansprechen“, „partielltes Ansprechen“, „kein Ansprechen“ und „klinische Verschlechterung“ zu bewerten. In Anbetracht der bekanntermaßen häufig therapieresistenten Epilepsieformen bei Patienten mit klassischer Lissenzephalie, entschieden wir uns, die Bewertung der antikonvulsiven Therapie mithilfe einer Ordinalskala durchzuführen. Die alternativ häufig für die Evaluation von

Antikonvulsiva verwendete Definition der Ansprechrates als Anfallsreduktion um 50 % erschien uns in diesem Kollektiv nicht sinnvoll. Medikamente, die von weniger als sechs Patienten eingenommen wurden, berücksichtigten wir nicht in der statistischen Auswertung (siehe Tab. 2)

2.3. Genetische Untersuchung

Die genetische Untersuchung und Diagnosesicherung der in unsere Studie eingeschlossenen Patienten wurde bereits vor Studienbeginn in unserem humangenetischen Zentrum ($n = 11$) bzw. in anderen kooperierenden humangenetischen Laboren in Deutschland und Österreich ($n = 11$) durchgeführt. Die für das Krankheitsbild ursächlichen Mutationen im *LIS1*-Gen (*PAFAH1B1*) wurden entweder mit Fluoreszenz-In-Situ-Hybridisierung (FISH), Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification (MLPA; MRC Holland Kit (P061-C1 vs.10)), quantitativer Polymerase-Kettenreaktion (qPCR; wie beschrieben durch Borozdin²²) oder Sanger-Sequenzierung des *LIS1*-Gens detektiert.

2.4. Statistische Auswertung

Die Datenauswertung erfolgte mithilfe des Statistikprogramms SPSS Software (IBM SPSS Statistics for Windows, Version 22.0, Armonk, New York, USA). Die Daten wurden unter Verwendung des Kolmogorov-Smirnov-Testes auf Normalverteilung untersucht. Normalverteilte Daten wurden in der vorliegenden Arbeit mithilfe von Mittelwert (*MW*) und Standardabweichung (Standard Deviation, *SD*) beschrieben, während nicht normalverteilte Daten mit Median (*M*) und Interquartilsabstand (Interquartile Range, *IQR*) angegeben wurden. Zur weiteren Beschreibung der Ergebnisse wurde bei Bedarf die Spannweite (Range, *R*) genannt. Die Evaluation der Effektivität der antikonvulsiven Therapie wurde mithilfe des Kruskal-Wallis Testes in Kombination mit einem post-hoc-Test (Dunn-Bonferroni-Test, zweiseitige Testung) durchgeführt. Unsere Studie wurde als exploratorische Studie angelegt, sodass ein nicht-adjustierter p-Wert von $p < 0,05$ als signifikant angenommen wurde (ohne Adjustierung bezüglich Multiplizität).²³

3. Ergebnisse

3.1. Patientenkollektiv

Unser Kollektiv bestand aus 22 nicht-verwandten Patienten (14 männliche, 8 weibliche) mit *LIS1*-assoziierter klassischer Lissenzephalie, die wir aus 16 deutschen und österreichischen Studienzentren rekrutierten. Das Alter der Patienten zum Zeitpunkt der Datenerhebung lag zwischen 8 Monaten und 24 Jahren (*MW*: $9,4 \pm 6,9$ Jahre). Ein Patient starb im Alter von 9,1 Jahren an einer Infektion mit Fieber-getriggelter Exazerbation seiner Epilepsie.

3.2. Klinische und neuroradiologische Diagnostik

Die Diagnose der Lissenzephalie wurde in unserer Patientenkohorte im medianen Alter von 4,3 Monaten (*IQR*: 3,2) gestellt. Bei einem Patienten erfolgte die Diagnosestellung bereits pränatal, bei drei Patienten (14 %) innerhalb der ersten sechs Lebenswochen und bei der Mehrheit der Patienten (82 %) nach der sechsten Lebenswoche. Erste klinische Auffälligkeiten (v.a. im Verhalten und in der psychomotorischen Entwicklung) oder die Manifestation erster Krampfanfälle wurden im durchschnittlichen Alter von $3,2 \pm 2,8$ Monaten beschrieben.

Die Diagnose Lissenzephalie wurde bei allen 22 Patienten durch eine Magnetresonanztomografie bestätigt, welche im medianen Alter von 5,0 Monaten (*R*: 20 Tage – 14,7 Jahre) durchgeführt wurde. Diese zeigte eine generalisierte Lissenzephalie ($n = 4$), okzipital betonte ($n = 14$) oder nicht näher differenzierte, klassische Lissenzephalie ($n = 4$). In allen zehn reevaluierten cMRT-Bildern war die Lissenzephalie stärker okzipital betont und das MRT-Grading entsprechend der Dobyns' lissenzephalypatterning scale²¹ ergab eine Lissenzephalie zwischen Grad 2 und 4, darunter Grad 2 ($n = 2$), Grad 3 ($n = 6$) und Grad 4 ($n = 2$) (siehe Abb. 1 und Tab. 1). Als häufigste, zusätzlich vorhandene Hirnfehlbildung lag ein abnormes Corpus callosum (Abflachung des Corpus und milde Hypoplasie des Splenium) vor, dass bei sieben Patienten diagnostiziert wurde (siehe Abb. 1). Des Weiteren zeigten sich eine Malrotation des Hippokampus bei zwei Patienten, erweiterte Ventrikel bei zwei und ein erweiterter extrazerebraler Raum bei einem Patienten. Ein Cavum Vergae als nicht-pathologische Variante konnten wir bei 50 % der Patienten unserer Kohorte identifizieren. In allen zehn reevaluierten MRT-Aufnahmen erschien das Kleinhirn unauffällig. Interessanterweise stellte sich die Gyrierung der orbitofrontalen Region in allen zehn cMRT-Bildern relativ wenig beeinträchtigt dar, sodass von einer stärkeren Beeinträchtigung der neuronalen Migration im okzipitalen Bereich im Vergleich zum frontobasalen Cortex

auszugehen ist (siehe Abb. 1, A(3)–C(3)). Für die weiteren zwölf Patienten lagen uns schriftliche neuroradiologische MRT-Befunde vor (elf ausführliche und ein kurzer Bericht). Darin wurden erweiterte Ventrikel bei drei Patienten beschrieben, eine Signalanhebung der weißen Substanz bei drei und eine Hypoplasie des Corpus callosum bei zwei Patienten. Weiterhin wurde ein vergrößerter extrazerebraler Raum bei einem Patienten sowie eine Kleinhirnhypoplasie bei einem anderen Patienten diagnostiziert.

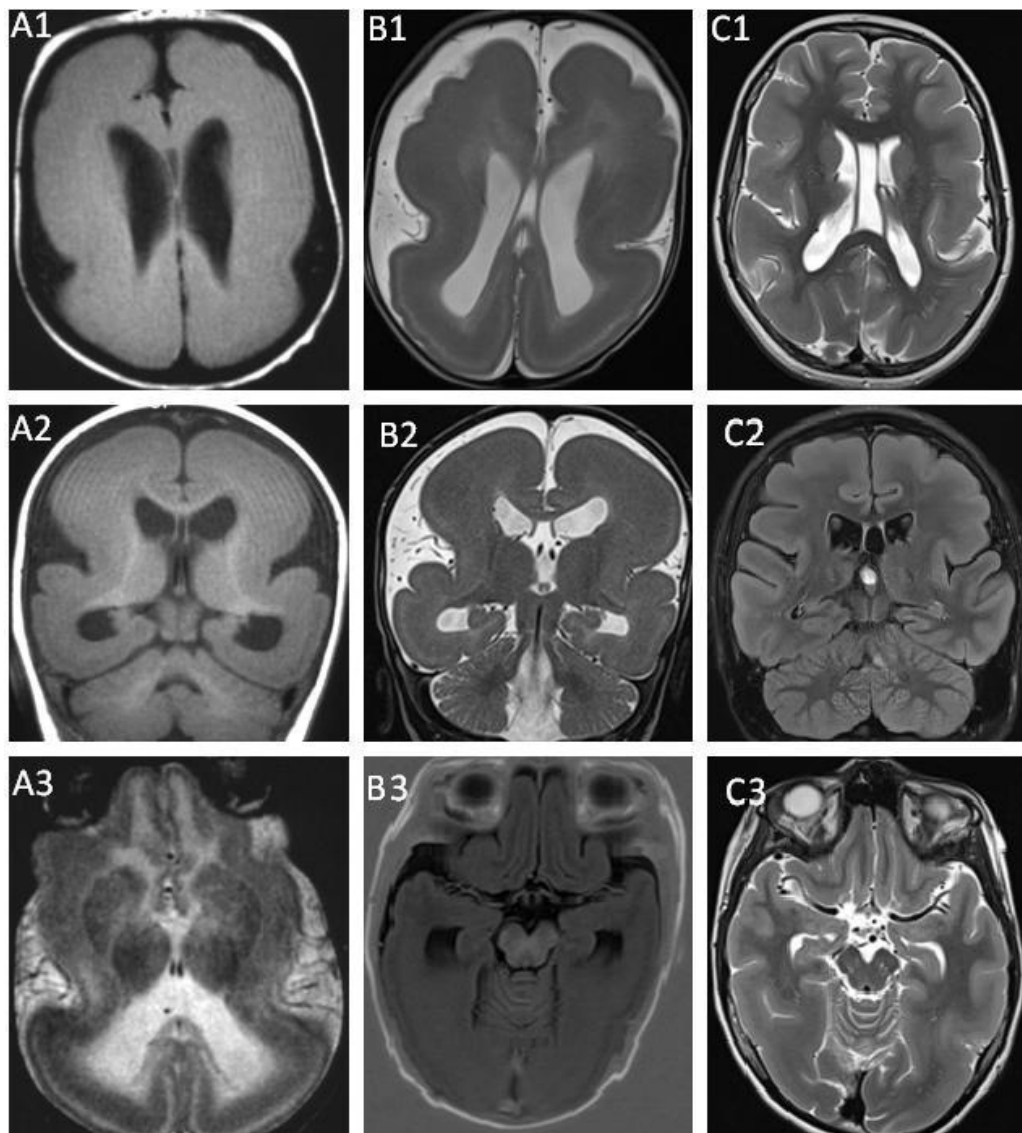


Abbildung 1: cMRT-Befunde bei klassischer LISI-assoziiierter Lissenzephalie.

A Patient mit Lissenzephalie Grad 2a: Diffuse Agyrie mit einigen flachen Sulci über den frontalen und temporalen Polen, Cavum Vergae. (1) axiales cMRT, (2) koronares cMRT, (3) axiales cMRT auf Höhe der Orbitae.

B Patient mit Lissenzephalie Grad 3a: Gemischte frontale Pachygyrie und okzipitale Agyrie, Cavum Vergae. (1) axiales cMRT, (2) koronares cMRT, (3) axiales cMRT auf Höhe der Orbitae.

C Patient mit Lissenzephalie Grad 4a: Diffuse okzipital ausgeprägte Pachygyrie, Cavum Vergae. (1) axiales cMRT, (2) koronares cMRT, (3) axiales cMRT auf Höhe der Orbitae.

A(3), B(3), C(3) Relativ geringe Beeinträchtigung der Gyrierung im Bereich der orbitofrontalen Region bei allen drei Patienten und Graden.

Tabelle 1: Klinische und genetische Daten der 22 Patienten mit *LIS1*-assoziierter klassischer Lissenzephalie.

Patient (Geschlecht)	Mutation ⁱ	Alter ⁱⁱ (Jahre)	Beginn der Epilepsie (Monate)	cMRT (Lissenzephalie-Grad)	Methode (genetische Untersuchung)
LIS1-01 (M)	c.58C>A, p.Arg20Ser	14,2	3,5	klassische Lissenzephalie (Grad 4)	Sequenzierung
LIS1-02 (W)	c.1066T>C, p.Cys356Arg	13	6	klassische Lissenzephalie	Sequenzierung
LIS1-03 (M)	c.569-10T>C	8	5	klassische Lissenzephalie	Sequenzierung
LIS1-04 (W)	c.900+1G>A	2,9	6	klassische Lissenzephalie	Sequenzierung
LIS1-05 (W)	c.817C>T, p.Arg273*	18,9	3	klassische Lissenzephalie (Grad 2)	Sequenzierung
LIS1-06 (M)	Deletion 17p13.3 Exon 8, Stop nach <i>GARNL4</i>	7,6	24	klassische Lissenzephalie	qPCR (Borozdin <i>et al.</i> 2004 J Med Genet)
LIS1-07 (W)	Deletion 17p13.3 inkl. <i>HIC</i> , <i>METTL16</i> , <i>LIS1</i> und <i>GARNL4</i> , ohne <i>YWHAE</i>	1,1	5	klassische Lissenzephalie (Grad 2)	MLPA
LIS1-08 (M)	Deletion 17p13.3 (<i>LIS1</i> : Exons 3–11 und 3' <i>KIAA0664</i>)	18	24	klassische Lissenzephalie (Grad 3)	MLPA
LIS1-09 (M)	<i>LIS1</i> -Duplikation (Intron 1-2; 18 kb)	6	3,5	klassische Lissenzephalie (Grad 4)	qPCR (Borozdin <i>et al.</i> 2004 J Med Genet)
LIS1-10 (M)	c.656G>A, p.Trp219*	16,5	5	klassische Lissenzephalie	Sequenzierung
LIS1-11 (M)	Deletion 17p13.3 5'-Ende inkl. <i>SERPINF1</i> und 3'-Ende bis <i>GARNL4</i>	7	6	klassische Lissenzephalie	qPCR (Borozdin <i>et al.</i> 2004 J Med Genet)
LIS1-12 (M)	<i>LIS1</i> -Deletion (Exon 6 + 7; 6.2 kb)	9,1 ⁱⁱⁱ	2,1	klassische Lissenzephalie (Grad 3)	qPCR (Borozdin <i>et al.</i> 2004 J Med Genet)
LIS1-13 (W)	c.282delG, p.Trp94*	0,67	3	klassische Lissenzephalie	Sequenzierung
LIS1-14 (W)	c.1050delG, p.Lys351Ser fs*4	14	2	klassische Lissenzephalie	Sequenzierung
LIS1-15 (W)	Deletion 17p13.3 (MDS)	3,7	6	klassische Lissenzephalie	FISH und MLPA
LIS1-16 (M)	<i>LIS1</i> -Deletion (Exon 8 + 9)	12,9	6	klassische Lissenzephalie (Grad 3)	MLPA
LIS1-17 (M)	Deletion 17p13.3 (MDS)	24	7	klassische Lissenzephalie	FISH
LIS1-18 (M)	Deletion 17p13.3 inkl. <i>METTL16</i> , <i>LIS1</i> und <i>KIAA0664</i>	0,67	4	klassische Lissenzephalie (Grad 3)	MLPA
LIS1-19 (W)	<i>LIS1</i> -Deletion (Exon 2-11)	6,6	4,5	klassische Lissenzephalie	qPCR (Borozdin <i>et al.</i> 2004 J Med Genet)
LIS1-20 (M)	c.22delC, p.Arg8Glu fs*4	2,2	4	klassische Lissenzephalie (Grad 3)	Sequenzierung
LIS1-21 (M)	komplexe Duplikation in 17p13.3 inkl. <i>YWHAE</i> (38.9 kb)	3,7	4	klassische Lissenzephalie (Grad 3)	MLPA
LIS1-22 (M)	c.281G>A, p.Trp94* (Mosaik, 20% mutierte Allele im peripheren Blut)	16,9	12	klassische Lissenzephalie	Sequenzierung

ⁱ gemäß der Referenz: NM_000430.3 # MLPA= MRC Holland Kit (P061-C1 vs.10)ⁱⁱ Alter zum Zeitpunkt der Datenerhebungⁱⁱⁱ Patient starb im Alter von 9,1 Jahren

3.3. Genotyp-Phänotyp-Korrelation und klinische Präsentation

Zehn Patienten in unserem Kollektiv (45 %) wiesen Exon-Deletionen oder komplette Deletionen des *LIS1*-Gens auf, darunter auch zwei Patienten mit Miller-Dieker-Syndrom, welche die typische, durch FISH bestätigte Mikrodeletion im Genabschnitt 17p13.3 besaßen (siehe Tab. 1). Des Weiteren wurde bei zwei Patienten (9 %) eine partielle Exon-Duplikation der *LIS1*-kritischen Region identifiziert. Eine Stopp-Mutation wurde bei vier Patienten (18 %) detektiert, darunter ein Patient mit Mosaik für eine Stopp-Mutation in circa 20 % der analysierten genomischen DNA im peripheren Blut. Bei jeweils zwei Patienten der Kohorte (9 %) wurden eine Missense-Mutation, eine Spleiß-Mutation und eine Frameshift-Mutation identifiziert (siehe Tab. 1).

Die psychomotorische Entwicklung aller Patienten unserer *LIS1*-Kohorte war zum Zeitpunkt der Datenerhebung bei einem medianen Patientenalter von 9,4 Jahren (*R*: 8 Monate – 24 Jahre) schwer beeinträchtigt. Während erste Entwicklungsschritte wie das Erlangen der Kopfkontrolle noch von der Mehrheit der Patienten erreicht wurden, erlernten nur wenige Patienten spätere Entwicklungsschritte des ersten Lebensjahres (siehe Abb. 2). 77,3 % der Patienten verfügte über eine gute Kopfkontrolle, aber 22,7 % besaß diese Fähigkeit nur selten oder nie. Selbstständiges Umdrehen beherrschten acht Patienten (36,4 %) immer und drei Patienten (13,6 %) gelegentlich. Nur ein kleiner Anteil von 18,2 % unserer *LIS1*-Kohorte erlernte, nach Objekten zu greifen. Meilensteine der zweiten Hälfte des ersten Lebensjahres wie Sitzen, Krabbeln und freies Stehen wurden von weniger als 15 % der Patienten erreicht. Nur drei Patienten gelang es, gelegentlich mit Hilfe zu laufen, aber kein Patient war dazu ohne Unterstützung fähig. Interessanterweise besaßen diese drei Patienten eine zugrundeliegende 5'-Missense-Mutation (p.Arg20Ser; Patient LIS1-01), eine kleine 18-kb-Duplikation (einschließlich Intron 1, Exon 2 und Intron 2; Patient LIS1-09) und ein geringgradiges Mosaik für eine Stopp-Mutation (p.W74*, Mutation in 20 % der peripheren Blutzellen; Patient LIS1-22). Außerdem wiesen die cMRT-Bilder für zwei dieser Patienten (LIS1-01, LIS1-09) einen milden zerebralen Phänotyp auf und wurden als Dobyns' Grad 4 eingestuft. Im Gegensatz dazu hatten alle anderen 19 Patienten unseres Kollektivs mit einem medianen Alter von 7,6 Jahren (*R*: 8 Monate – 24 Jahre) bislang keine Meilensteine der zweiten Hälfte des ersten Lebensjahres erlernt (siehe Abb. 2).

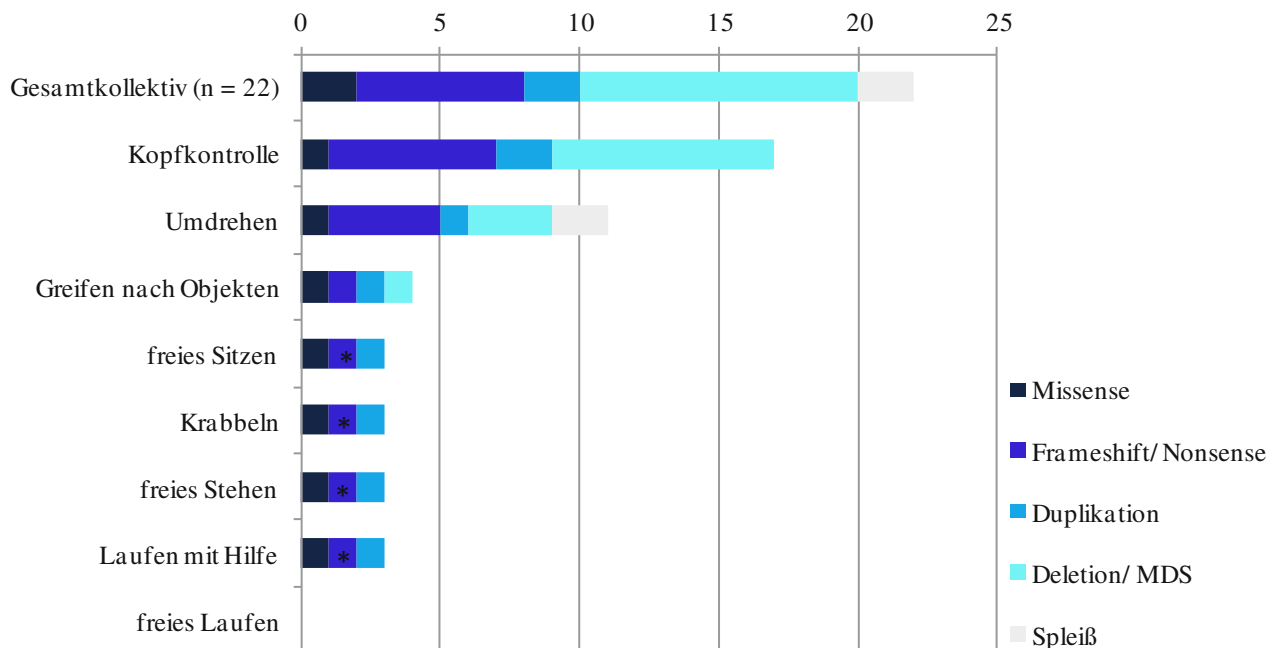


Abbildung 2: Genotyp-Phänotyp-Korrelation bei *LIS1*-assoziierter klassischer Lissenzephalie.

Nur 3 von 22 Patienten waren fähig, psychomotorische Meilensteine der zweiten Hälfte des ersten Lebensjahres zu erlernen, darunter ein Patient mit einer 18-kb-Duplikation (cMRT: Grad 4a), ein Patient mit einer Missense-Mutation (cMRT: Grad 4a) sowie ein Patient (*) mit einem Mosaik einer Stopp-Mutation (mit ca. 20 % mutierten Allelen im peripheren Blut).

3.4. Epilepsie und Elektroenzephalografie (EEG)

Alle Patienten unserer *LIS1*-Kohorte entwickelten eine pharmakoresistente Epilepsie. In 82 % (n = 18) manifestierte sich die Epilepsie innerhalb der ersten sechs Lebensmonate. Das Alter der Kinder zu Beginn der Krampfanfälle lag zwischen 2 und 24 Monaten, mit einem medianen Alter von 5 Monaten (*IQR*: 2,1). Bei der Mehrheit der Patienten manifestierte sich die Epilepsie in Form von Blitz-Nick-Salaam (BNS)-Anfällen (n = 10/14, 71 %), bei zwei Patienten wurden zusätzlich myoklonische Anfälle beschrieben. Drei Patienten (21 %) litten zu Beginn an generalisierten tonisch-klonischen Anfällen und ein weiterer Patient (7 %) an generalisierten tonischen Anfällen.

Zum Zeitpunkt der Datenerhebung litt die Mehrzahl der Patienten (n = 11/17, 65 %) an einer

Vielzahl verschiedener Krampfanfälle, darunter waren am häufigsten tonisch-klonisch generalisierte Anfälle ($n = 12$, 71 %). Außerdem wurden fokale Krampfanfälle bei sechs Patienten (35 %), BNS-Anfälle bei vier (24 %), Absencen bei drei (18 %), myoklonische Anfälle bei drei (18 %), tonische Anfälle bei drei (18 %), klonische Anfälle bei einem (6 %) und atonische Anfälle bei einem Patienten (6 %) beschrieben.

Die elektroenzephalografische Diagnostik (EEG) zeigte ein auffälliges interiktales Muster bei allen Patienten, einschließlich Hypsarrhythmie ($n = 9/20$, 45 %), regionale Auffälligkeiten bzw. regionale Epilepsie-typische Potenziale (ETP) ($n = 11/20$, 55 %) sowie generalisierte Auffälligkeiten bzw. generalisierte ETP ($n = 10/20$, 50 %).

Obgleich alle Patienten trotz antikonvulsiver Therapie nach wie vor an regelmäßigen Krampfanfällen litten, konnte die tägliche mediane Anzahl der Krampfanfälle von 4,0 (*IQR*: 10,5) zu Beginn der Epilepsie auf 1,5 (*IQR*: 4,9) zum Zeitpunkt der Datenerhebung gesenkt werden. Zum Zeitpunkt der Studie wiesen dennoch 65 % der Patienten ($n = 13$) tägliche Anfälle auf, 30 % ($n = 6$) litt an wöchentlichen Anfällen und nur ein Patient litt seltener als einmal pro Woche an epileptischen Anfällen. Zwei Familien berichteten explizit von einem Verlust früher erlernter Fähigkeiten ihrer Kinder in Zeiten erhöhter epileptischer Aktivität.

3.5. Evaluation der antikonvulsiven Therapie

Die statistische Analyse der Effektivität der antikonvulsiven Therapie erfolgte für alle Medikamente, die von mindestens sechs Patienten eingenommen wurden. So konnte im Anschluss aus den Ergebnissen der Familien- sowie der neuropädiatrischen Evaluation eine Rangfolge der Effektivität der Antikonvulsiva erstellt werden (siehe Abb. 3a und 3b). Alle Antikonvulsiva, die für weniger als sechs Patienten bewertet wurden, berücksichtigten wir nicht in der statistischen Auswertung (siehe Tab. 2).

In beiden Bewertungen wurde Lamotrigin (LTG) mit einer (partiellen) Ansprechrate von 87,5–100 % als erfolgreichstes antikonvulsives Medikament bewertet. Seine Effektivität wurde in der neuropädiatrischen Evaluation signifikant besser als die von Levetiracetam (LEV) und Sultiam (STM) ($p < 0,05$ bzw. $p < 0,01$) beurteilt, in der Familien-Evaluation signifikant besser als Oxcarbazepin (OXC), LEV, STM ($p < 0,05$) und Topiramat (TPM) ($p < 0,01$).

Auf dem zweitbesten Rang folgte Valproat (VPA) mit einer (partiellen) Ansprechrate von 88,2–91,7 %. Seine Effektivität wurde in beiden Evaluationen signifikant besser als die von LEV und STM ($p < 0,05$) bewertet, sowie signifikant besser als TPM in der Familien-Evaluation ($p < 0,01$).

Zum Zeitpunkt der Datenerhebung erhielten fünf schwer betroffene Patienten eine Kombinationstherapie aus LTG und VPA. Bei vier der Patienten führte diese Kombination zur Reduktion der Anfallsrate um 91,2 % von 17/Tag (*IQR*: 26,4) auf 1,5/Tag (*IQR*: 7,0) (Daten zur Anfallsrate des fünften Patienten lagen uns nicht vor). Zusätzlich zu VPA und LTG nahmen vier der fünf Patienten weitere antikonvulsive Medikamente ein, darunter Stiripentol und Clobazam ($n = 1$), Vigabatrin (VGB) ($n = 1$) und Rufinamid ($n = 1$). Interessanterweise erhielt ein 17-jähriger Patient zusätzlich zu seiner unveränderten medikamentösen Therapie aus LTG und VPA über zwei Jahre eine Vagusnervstimulation. Er profitierte von dieser Kombination aus medikamentöser und nicht-medikamentöser Therapie mit einer Reduktion der Anfallsrate sowie einer Verbesserung des EEG, ohne zusätzlich ausgeprägte Nebenwirkungen zu entwickeln.

Phenobarbital (PB) und VGB wurden als dritt- und viertbestes Medikament sowohl in der Familien- als auch in der neuropädiatrischen Evaluation bewertet. PB wurde in 33,3–41,7 % eine gute und in 41,7–44,4 % eine partielle Wirksamkeit zugeschrieben. Ein ähnlich gutes Ansprechen zeigte VGB mit einer guten oder partiellen Wirksamkeit von 61,6–68,8 % in beiden Evaluationen. PB und VGB wurden beide signifikant besser als das am wenigsten wirksame Medikament der jeweiligen Evaluation (STM in der neuropädiatrischen Evaluation ($p < 0,01$) und TPM in der Familien-Evaluation ($p < 0,05$)) bewertet.

Im Gegensatz dazu wurde für OXC kein Ansprechen oder sogar eine klinische Verschlechterung in 71,4 % ($n = 7$), sowie für LEV in 60 % ($n = 10$) in der neuropädiatrischen Evaluation beschrieben. STM zeigte kein Ansprechen bei allen Patienten und schnitt somit in der neuropädiatrischen Evaluation am schlechtesten ab. In 83,3 % besaß es kein Ansprechen, in 16,7 % führte es sogar zu klinischer Verschlechterung ($n = 6$). Vergleichbar schlechte Resultate für OXC, LEV und STM wurden in der Familien-Evaluation beschrieben. LEV zeigte in 46,2 % keine Wirksamkeit oder führte zu klinischer Verschlechterung ($n = 13$), OXC in 50 % ($n = 8$) und STM in 54,6 % ($n = 11$).

Die Bewertungen für TPM divergierten in den beiden Evaluationen. Seine Ansprechrate wurde von den Familien mit keinem Ansprechen in 52,9 % bzw. sogar klinischer Verschlechterung in 5,9 % bewertet. In 29,4 % wurde TPM eine partielle Wirkung, in 11,8 % eine gute Wirkung zugeschrieben ($n = 17$). In der neuropädiatrischen Evaluation wurde es immerhin als fünftbestes Medikament, mit einem guten Ansprechen in 18,2 %, einem partiellem Ansprechen in 45,5 % und keiner Wirksamkeit in 36,4 % beschrieben ($n = 11$).

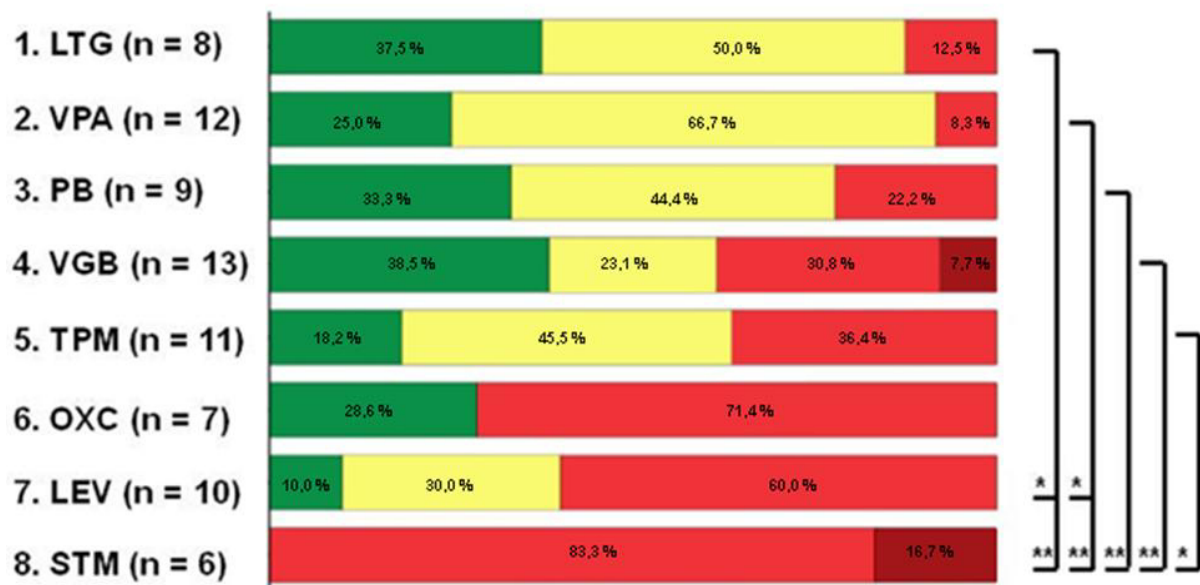


Abbildung 3a: Effektivität der antikonvulsiven Therapie (neuropädiatrische Evaluation).

Therapeutisches Ansprechen auf verschiedene Antikonvulsiva in absteigender Rangfolge entsprechend der Kruskal-Wallis-Rangsumme: Gutes Ansprechen = grün, partielles Ansprechen = gelb, kein Ansprechen = rot, klinische Verschlechterung = dunkelrot. Statistisch signifikante Unterschiede sind mit '*' ($p < 0,05$) bzw. '**' ($p < 0,01$) gekennzeichnet.

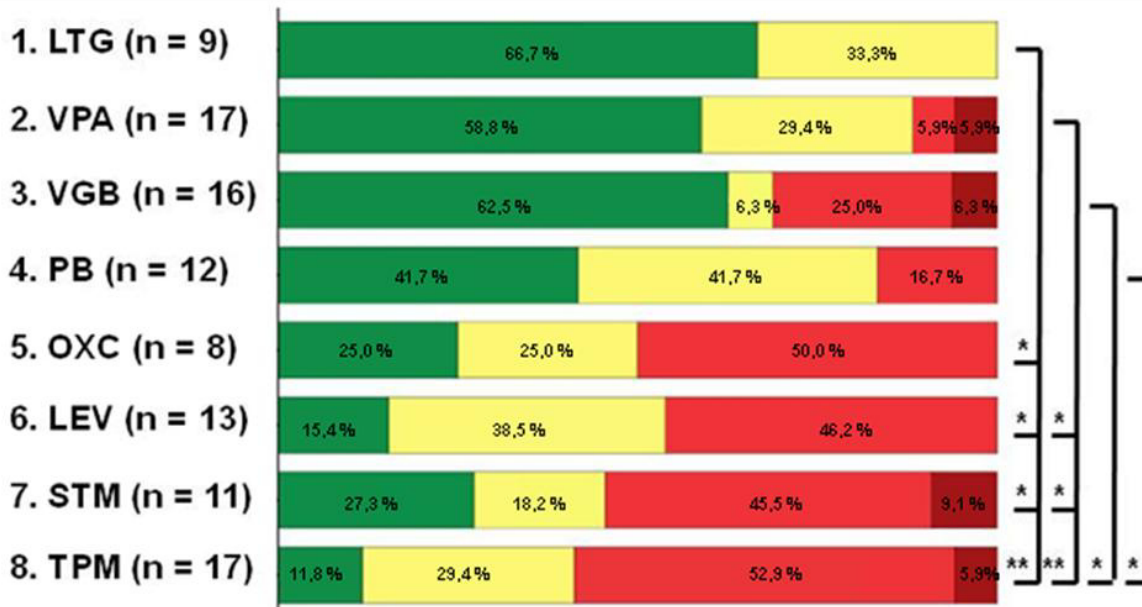


Abbildung 3b: Effektivität der antikonvulsiven Therapie (Familien-Evaluation).

Therapeutisches Ansprechen auf verschiedene Antikonvulsiva in absteigender Rangfolge entsprechend der Kruskal-Wallis-Rangsumme: Gutes Ansprechen = grün, partielles Ansprechen = gelb, kein Ansprechen = rot, klinische Verschlechterung = dunkelrot. Statistisch signifikante Unterschiede sind mit '*' ($p < 0,05$) bzw. '**' ($p < 0,01$) gekennzeichnet.

Tabelle 2: Effektivität der Antikonvulsiva, die von weniger als sechs Patienten verwendet wurden (neuropädiatrische und Familien(*)-Evaluation).

Antikonvulsivum	n	therapeutisches Ansprechen			
		gut	partiell	kein	klinische Verschlechterung
Carbamazepin*	5	2	0	3	0
Phenytoin	4	1	0	3	0
Glukokortikoide*	3	2	1	0	0
Clonazepam	3	1	1	1	0
Clobazam*	3	1	1	1	0
Rufinamid	3	0	1	2	0
Lacosamid*	2	1	0	1	0
Zonisamid	2 ^{iv}	0	0	1	0
ACTH	1	1	0	0	0
Diazepam*	1	1	0	0	0
Vitamin B ₆ *	1	0	1	0	0
Stiripentol	1	0	1	0	0
Immunglobuline	1	0	1	0	0
Mesuximid	1	0	0	1	0
Primidon	1	0	0	1	0
ketogene Diät*	1	0	0	1	0

^{iv} Daten des zweiten Patienten nicht verfügbar

4. Diskussion

Die psychomotorische Entwicklung von Patienten mit klassischer *LIS1*-assoziierter Lissenzephalie ist schwer beeinträchtigt und bereits zu einem frühen Zeitpunkt in der Entwicklung gestört, sodass Meilensteine der zweiten Hälfte des ersten Lebensjahres kaum erlernt werden. In unserem Kollektiv waren nur drei Patienten mit milderen Mutationen (5'-Missense-Mutation bzw. 5'-Duplikation vor der Coiled-coil-Domäne, somatisches Mosaik für eine Stopp-Mutation) fähig zu sitzen, zu krabbeln und mit Hilfe zu laufen. Dies lässt vermuten, dass Patienten mit oben genannten Mutationen möglicherweise über ein besseres Entwicklungspotenzial verfügen als Patienten mit Deletionen oder anderen Mutationen, welche zu einem vorzeitigen Stopp der Proteinbiosynthese führen. Interessanterweise wurde eine ähnliche Genotyp-Phänotyp-Korrelation kürzlich im Hinblick auf das Lissenzephalie-Grading im cMRT beschrieben: Zwei Patienten mit einer 5'-Missense- bzw. 5'-Spleiß-Mutation vor der Coiled-coil-Domäne wiesen eine Lissenzephalie Grad 4 auf, während andere Patienten mit größeren Deletionen eine schwerere Beeinträchtigung des Phänotyps im cMRT (Grad 2–3) zeigten.^{24,25}

Eine große Herausforderung in der Behandlung von Patienten mit *LIS1*-assoziierter klassischer Lissenzephalie ist die Therapie der meist schweren Epilepsie, welche häufig auch auf eine medikamentöse Mehrfachtherapie nur unzureichend anspricht. Wie auch in anderen vergleichbaren Kohorten beschrieben, manifestierte sich die Epilepsie in unserem Patientenkollektiv in circa 90 % innerhalb des ersten Lebensjahres.^{4,5} Leventer *et al.* beschreiben in ihrer Arbeit fünf Patienten mit *LIS1*-assoziierter klassischer Lissenzephalie und Epilepsie, von denen drei eine Therapieresistenz gegenüber einer Vielzahl an Antikonvulsiva aufweisen.¹⁴ Ebenso lag nach der Definition der International League Against Epilepsie (ILAE)²⁶ bei allen 22 Patienten unseres Kollektivs eine therapieresistente Epilepsie vor. Obgleich eine optimale Symptomkontrolle von großer Bedeutung ist, um den betroffenen Kindern bestmögliche Bedingungen für das Erlernen einfacher psychomotorischer und mentaler Entwicklungsschritte zu schaffen, existieren bislang nur wenige Daten zur Wirksamkeit von Antikonvulsiva bei Kindern mit klassischer Lissenzephalie.^{13,14,15} Da bei der klassischen Lissenzephalie der Cortex-Aufbau genspezifische Veränderungen aufweist, vermuten wir, dass ein Genotyp-spezifisches Vorgehen bei der antikonvulsiven Therapie möglicherweise besser geeignet ist, eine Anfallsreduktion zur Verbesserung der Lebensqualität betroffener Kinder zu erreichen.

In unserer Kohorte manifestierte sich die Epilepsie initial zumeist durch BNS-Anfälle. Vergleichbares wurde auch in anderen Kollektiven von Patienten mit klassischer Lissenzephalie berichtet.^{5,6} Nach unseren Ergebnissen können Standard-Therapieprotokolle für BNS-Epilepsien wie VGB, ACTH und Steroide auch im frühen Krankheitsverlauf bei Kindern mit *LIS1*-assoziierter klassischer Lissenzephalie erfolgreich angewandt werden. Dieses Vorgehen wird auch von Mokánszki *et al.* empfohlen, die in ihrer Studie eine gute Wirksamkeit von ACTH bei einem Kind mit BNS-Epilepsie und klassischer Lissenzephalie mit einer zugrundeliegenden Frameshift-Mutation im *LIS1*-Gen beschreiben.¹⁵ Weiterhin wurde eine gute Wirksamkeit von VGB in der Behandlung von BNS-Anfällen auch bei Kindern mit anderen zerebralen Malformationen und tuberöser Hirnsklerose berichtet.²⁷

In unserem Patientenkollektiv war zu beobachten, dass sich die Epilepsie mit steigendem Lebensalter hin zu einem stärker variablen klinischen Bild entwickelte, welches verschiedene Typen fokaler wie generalisierter tonisch-klonischer Anfälle umfasste. Bei diesen Kindern erscheint uns ein früher Therapiebeginn mit LTG und VPA vielversprechend. Beide Medikamente wurden sowohl in der Familien-, als auch in der neuropädiatrischen Evaluation mit (partiellen) Ansprechraten von über 85 % am besten bewertet. LTG ist ein wirksames Medikament zur Therapie von generalisierten tonisch-klonischen Anfällen und wird darüber hinaus bei der Behandlung eines breiten Spektrums an fokalen Anfällen eingesetzt.^{28,29} Außerdem stellt LTG eines der wenigen FDA-zugelassenen Therapeutika in der Therapie eines schweren Lennox-Gastaut-Syndroms dar.³⁰ Des Weiteren könnten die hohen Ansprechraten in unserer Evaluation von über 75 % für PB, welches typischerweise vorwiegend zur Therapie neonataler Krampfanfälle genutzt wird,³¹ auf seinen Nutzen auch bei älteren Kindern mit *LIS1*-Mutation hindeuten.

Zusammenfassend lassen unsere Daten die Kombination aus LTG und VPA als ein vielversprechendes Therapieregime für Patienten mit *LIS1*-assoziierter Lissenzephalie erscheinen. Dieser Kombinationstherapie wird zudem eine synergistische Wirkung zugesprochen.^{32,33} Unsere Kohorte enthielt fünf schwer betroffene Patienten, welche die Kombinationstherapie aus LTG und VPA zum Zeitpunkt der Studie eingenommen haben. Mit diesem Therapieregime konnte die mediane Anfallsrate von 17/Tag auf 1,5/Tag (um 91,2 %) reduziert werden. Ergänzend zu LTG und VPA nahmen vier Patienten noch weitere Antikonvulsiva ein und einer dieser Patienten wurde zusätzlich mit einer Vagusnervstimulation behandelt. Weitere Studien sind erforderlich, um den Nutzen komplementärer Therapieverfahren wie der Vagusnervstimulation, welche bereits als

wirksame Therapie in Patientenkohorten mit therapieresistenter läsioneller Epilepsie beschrieben wurde,¹⁷ auch für Patienten mit klassischer Lissenzephalie zu evaluieren.

Die Evaluation der antikonvulsiven Therapie durch die betroffenen Familien bzw. behandelnden Neuropädiater zeigte ähnliche Ergebnisse für die Mehrheit der bewerteten Antikonvulsiva. Insgesamt fiel die Bewertung durch die Neuropädiater kritischer aus. Eine Ausnahme stellt TPM dar. Dieses wurde in der Familien-Evaluation mit keinem Ansprechen bzw. klinischer Verschlechterung in 58,8 % als schlechtestes Antikonvulsivum eingestuft. Im Gegensatz dazu evaluierten die Neuropädiater TPM immerhin mit einer (partiellen) Wirksamkeit von 63,7 %. Diese divergenten Ergebnisse können teilweise durch die ausgeprägten Nebenwirkungen des Medikaments erklärt werden, von denen uns berichtet wurde. Die Familien könnten die antikonvulsive Therapie von TPM aufgrund der häufigen, Dosis-abhängig auftretenden Schläfrigkeit und Sedierung schlechter bewertet haben.³⁴ Eine Familie erwähnte im Telefoninterview konkret, dass ihr Kind unter der Therapie mit TPM über 20 Stunden am Tag schlafe und kaum reagieren würde. Weitere Studien wären wünschenswert, um das Ausmaß von (Genotyp-spezifischen) Nebenwirkungen, wie beispielsweise einer starken Sedierung unter TPM-Therapie, bei Kindern mit *LIS1*-assoziierter klassischer Lissenzephalie genauer zu analysieren.

Trotz einer antikonvulsiven Polytherapie litten etwa zwei Drittel der Patienten unseres Kollektivs weiterhin täglich unter epileptischen Anfällen. Interessanterweise haben sechs Patienten mit weniger als einem epileptischen Krampfanfall pro Tag zum Zeitpunkt der Datenerhebung mindestens ein Antikonvulsivum der vier am besten bewerteten Medikamente (VPA, LTG, VGB, PB) eingenommen, einschließlich eines Patienten mit der Kombinationstherapie LTG und VPA.

Wir sind uns der Grenzen der Aussagekraft dieser retrospektiven Studie zur Effektivität der antikonvulsiven Therapie bei 22 Patienten mit *LIS1*-assoziierter klassischer Lissenzephalie bewusst. Aufgrund der retrospektiven Datenerhebung war ein systematischer Vergleich der Dosen und Serumspiegel aktiver Metabolite nicht möglich, ebenso wenig wie die Berücksichtigung überlappender Bereiche verschiedener eingenommener Medikamente. Des Weiteren sind auch spontane und altersabhängige Fluktuationen der Anfallsrate möglich und wurden nur eingeschränkt berücksichtigt. Aufgrund der Seltenheit der Erkrankung ist es jedoch schwierig, den nötigen Goldstandard einer klinischen Studie zu erreichen. In dieser ersten Studie konnte die Wirksamkeit der verwendeten Antikonvulsiva daher nur anhand der subjektiven Einschätzung der betroffenen Familien und behandelnden Neuropädiater evaluiert

werden. Dennoch gelang es uns, spannende Einblicke in verschiedene häufig angewandte antikonvulsive Behandlungsschemata bei Patienten mit *LISI*-assoziierter klassischer Lissenzephalie zu gewinnen und ihre Effektivität hinsichtlich der Anfallsrate und der Verbesserung der Lebensqualität als wichtige Endpunkte in der Therapie dieses Patientenkollektivs zu beschreiben. Diese ersten Ergebnisse müssen nun durch weitere prospektiv angelegte Studien ergänzt werden. So sollte die Reduktion der Anfallsraten in größeren Patientenkohorten mit dieser seltenen genetischen Erkrankung evaluiert werden, damit langfristig die Anfallskontrolle sowie die Lebensqualität der Betroffenen verbessert werden kann.

5. Zusammenfassung

Die *LIS1*-assoziierte Lissenzephalie führt zu einer schweren psychomotorischen Behinderung und geht mit einer häufig therapieresistenten Epilepsie einher, welche sich in der Regel innerhalb des ersten Lebensjahres manifestiert. Betroffene Patienten profitieren unseren Studienergebnissen zufolge am meisten von einer Therapie mit den Antikonvulsiva Lamotrigin, Valproat, Vigabatrin und Phenobarbital. Insbesondere die Kombination aus Lamotrigin und Valproat erscheint vielversprechend. Die Ergebnisse unserer Arbeit beschränken sich auf Patienten mit *LIS1*-assoziiierter klassischer Lissenzephalie und müssen durch größere prospektive Studien bestätigt werden. Darüber hinaus sind weitere Studien zum epileptischen Phänotyp auch bei selteneren genetischen Ursachen der klassischen Lissenzephalie, wie z.B. Patienten mit Mutationen im *DCX*- oder *TUBA1A*-Gen notwendig.

6. Abkürzungsverzeichnis

EEG	Elektroenzephalografie
BNS-Anfälle	Blitz-Nick-Salaam-Anfälle
ILS	Isolierte Lissenzephalie Sequenz
cMRT	cranial Magnet Resonance Tomography (kraniale Magnetresonanztomografie)
FISH	Fluoreszenz-In-Situ-Hybridisierung
MLPA	Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification
qPCR	quantitative Polymerase Chain Reaction (Quantitative Polymerase-Kettenreaktion)
Kb	Kilobasen
MDS	Miller-Dieker-Syndrom
DNA	Deoxyribonucleic Acid (Desoxyribonukleinsäure)
ETP	Epilepsie-Typische Potenziale
ACTH	Adrenocorticotropes Hormon
ILAE	International League Against Epilepsy (Internationale Liga gegen Epilepsie)
FDA	Food and Drug Administration (Lebensmittelüberwachungs- und Arzneimittelzulassungsbehörde der USA)
Tab.	Tabelle
Abb.	Abbildung
<i>IQR</i>	Interquartile range (Interquartilsabstand)
<i>M</i>	Median
<i>MW</i>	Mittelwert
<i>SD</i>	Standard deviation (Standardabweichung)
<i>R</i>	Range (Spannweite)
LTG	Lamotrigin
VPA	Valproat
PB	Phenobarbital

VGB	Vigabatrin
TPM	Topiramat
OXC	Oxcarbazepin
LEV	Levetiracetam
STM	Sultiam

7. Literaturverzeichnis

- 1 Dobyns WB, Das S. *LIS1*-Associated Lissencephaly/ Subcortical Band Heterotopia. *GeneReviews*®, Univ Washington, Seattle; 2009 [updated 2014].
- 2 Fry AE, Cushion TD, Pilz DT. The Genetics of Lissencephaly. *Am J Med Genet C Semin Med Genet* 2014; **166C**: 198–210.
- 3 Wynshaw-Boris A, Pramparo T, Youn YH, Hirotsune S. Lissencephaly: Mechanistic insights from animal models and potential therapeutic strategies. *Semin Cell Dev Biol* 2010; **21**: 823–30.
- 4 Dobyns WB. The clinical patterns and molecular genetics of lissencephaly and subcortical band heterotopia. *Epilepsia* 2010; **51**: 5–9.
- 5 De Wit M-CY, de Rijk-van Andel J, Halley DJ, *et al.* Long-term follow-up of type 1 lissencephaly: survival is related to neuroimaging abnormalities. *Dev Med Child Neurol* 2011; **53**: 417–21.
- 6 Saillour Y, Carion N, Quelin C, *et al.* *LIS1*-Related Isolated Lissencephaly. *Arch Neurol* 2009; **66**: 1007–15.
- 7 Hehr U, Schuierer G. Genetic Assessment of Cortical Malformations. *Neuropediatrics* 2011; **42**: 43–50.
- 8 Cardoso C, Leventer RJ, Ward HL, *et al.* Refinement of a 400-kb Critical Region Allows Genotypic Differentiation between Isolated Lissencephaly, Miller-Dieker Syndrome, and Other Phenotypes Secondary to Deletions of 17p13.3. *Am J Hum Genet* 2003; **72**: 918–30.
- 9 Forman MS, Squier W, Dobyns WB, Golden JA. Genotypically Defined Lissencephalies Show Distinct Pathologies. *J Neuropathol Exp Neurol* 2005; **64**: 847–57.
- 10 Dobyns W, Reiner O, Carrozzo R, Ledbetter H. Lissencephaly - A Human Brain Malformation Associated With Deletion of the *LIS1* Gene Located at Chromosome 17p13. *JAMA* 1993; **270**: 2838–42.
- 11 Friocourt G, Marcorelles P, Saugier-Verber P, Quille M-L, Marret S, Laquerrière A. Role of cytoskeletal abnormalities in the neuropathology and pathophysiology of type I lissencephaly. *Acta Neuropathol* 2011; **121**: 149–70.
- 12 Kato M, Dobyns WB. Lissencephaly and the molecular basis of neuronal migration. *Hum Mol Genet* 2003; **12**: R89–96.
- 13 Inui T, Kobayashi T, Kobayashi S, *et al.* Efficacy of long term weekly ACTH therapy for intractable epilepsy. *Brain Dev* 2015; **37**: 449–54.
- 14 Leventer RJ, Cardoso C, Ledbetter DH, Dobyns WB. *LIS1* missense mutations cause milder lissencephaly phenotypes including a child with normal IQ. *Neurology* 2001; **57**: 416–22.

- 15 Mokánszki A, Körhegyi I, Szabó N, *et al.* Lissencephaly and Band Heterotopia: *LIS1*, *TUBA1A*, and *DCX* Mutations in Hungary. *J Child Neurol* 2012; **27**: 1534–40.
- 16 Klinkenberg S, Aalbers MW, Vles JSH, *et al.* Vagus nerve stimulation in children with intractable epilepsy: a randomized controlled trial. *Dev Med Child Neurol* 2012; **54**: 855–61.
- 17 Hajnsek S, Petelin Z, Poljakovic Z, Mrak G, Paladino J, Desnica A. Vagus Nerve Stimulation in the Treatment of Patients with Pharmacoresistant Epilepsy: Our Experiences. *Coll Antropol* 2011; **35**: 755–60.
- 18 Kayyali HR, Gustafson M, Myers T, Thompson L, Williams M, Abdelmoity A. Ketogenic Diet Efficacy in the Treatment of Intractable Epileptic Spasms. *Pediatr Neurol* 2014; **50**: 224–7.
- 19 Yamada M, Yoshida Y, Mori D, *et al.* Inhibition of calpain increases *LIS1* expression and partially rescues in vivo phenotypes in a mouse model of lissencephaly. *Nat Med* 2009; **15**: 1202–7.
- 20 Majkowski J. Drug Effects on Afterdischarge and Seizure Threshold in Lissencephalic Ferrets: An Epilepsy Model for Drug Evaluation. *Epilepsia* 1983; **24**: 678–85.
- 21 Dobyns WB, Truwit CL, Ross ME, *et al.* Differences in the gyral pattern distinguish chromosome 17-linked and X-linked lissencephaly. *Neurology* 1999; **53**: 270–7.
- 22 Borozdin W, Boehm D, Leipoldt M, *et al.* SALL4 deletions are a common cause of Okihiro and acro-renal-ocular syndromes and confirm haploinsufficiency as the pathogenic mechanism. *J Med Genet* 2004; **41**: e113.
- 23 Bender R, Lange S. Adjusting for multiple testing--when and how? *J Clin Epidemiol* 2001; **54**: 343–9.
- 24 Uyanik G, Morris-Rosendahl DJ, Stiegler J, *et al.* Location and type of mutation in the *LIS1* gene do not predict phenotypic severity. *Neurology* 2007; **69**: 442–7.
- 25 Cardoso C, Leventer RJ, Dowling JJ, *et al.* Clinical and Molecular Basis of Classical Lissencephaly: Mutations in the *LIS1* Gene (*PAFAH1B1*). *Hum Mutat* 2002; **19**: 4–15.
- 26 Kwan P, Arzimanoglou A, Berg AT, *et al.* Definition of drug resistant epilepsy: Consensus proposal by the ad hoc Task Force of the ILAE Commission on Therapeutic Strategies. *Epilepsia* 2010; **51**: 1069–77.
- 27 Vigevano F, Cilio MR. Vigabatrin versus ACTH as first-line treatment for infantile spasms: a randomized, prospective study. *Epilepsia* 1997; **38**: 1270–4.
- 28 Beran RG, Berkovic SF, Dunagan FM, *et al.* Double-Blind, Placebo-Controlled, Crossover Study of Lamotrigine in Treatment-Resistant Generalised Epilepsy. *Epilepsia* 1998; **39**: 1329–33.
- 29 Trevathan E, Kerls SP, Hammer AE, Vuong A, Messenheimer JA. Lamotrigine adjunctive therapy among children and adolescents with primary generalized tonic-clonic seizures. *Pediatrics* 2006; **118**: 371–8.

- 30 Montouris GD, Wheless JW, Glauser TA. The efficacy and tolerability of pharmacologic treatment options for Lennox-Gastaut syndrome. *Epilepsia* 2014; **55**: 10–20.
- 31 Hellström-Westas L, Boylan G, Agren J. Systematic review of neonatal seizure management strategies provides guidance on anti-epileptic treatment. *Acta Paediatr* 2015; **104**: 123–9.
- 32 Brodie MJ, Yuen AWC. Lamotrigine substitution study: evidence for synergism with sodium valproate? *Epilepsy Res* 1997; **26**: 423–32.
- 33 Morris RG, Black AB, Lam E, Westley IS. Clinical Study of Lamotrigine and Valproic Acid in Patients With Epilepsy: Using a Drug Interaction to Advantage? *Ther Drug Monit* 2000; **22**: 656–60.
- 34 Uldall P, Buchholt JM. Clinical experiences with topiramate in children with intractable epilepsy. *Eur J Paediatr Neurol* 1999; **3**: 105–11.

8. Danksagung

An dieser Stelle möchte ich mich ganz herzlich bei allen Personen bedanken, die mit ihrer Unterstützung wesentlich zur Entstehung dieser Arbeit beigetragen haben.

Mein besonderer Dank gilt Frau Prof. Dr. Ute Hehr und Frau Dr. Saskia Herbst für die Überlassung des Promotionsthemas, die außerordentlich gute Betreuung sowie die bereichernde fachliche und persönliche Zusammenarbeit. Ihre Ideen, Anregungen und langjährige Erfahrung waren eine wertvolle Hilfe bei der Entstehung meiner Arbeit.

Weiterhin möchte ich mich herzlich bei Christin und Burkhard Propf von Liss e.V. für die gute und engagierte Zusammenarbeit sowie die herzliche Betreuung bei den Elterntreffen 2013 und 2015 in Möhnesee-Günne bedanken.

Meinen großen Dank möchte ich allen Patienten und deren Familien, sowie den behandelnden (Neuro-)Pädiatern für die Mitarbeit und konstruktiven Anregungen an unserer Studie aussprechen. Ohne ihre Unterstützung und ihr Engagement wäre diese Arbeit nicht möglich gewesen.

Danke auch an Herrn Prof. Dr. Schuierer und Herrn Dr. Geis für die Unterstützung bei speziellen neuroradiologischen und neuropädiatrischen Fragen zu unserer Studie.

Zu guter Letzt möchte ich mich von Herzen bei meiner Familie und bei Hannes für die Motivation und Unterstützung bei dieser Arbeit sowie während meines Studiums bedanken.